

氏名	大 神 正 幸
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第3581号
学位授与年月日	平成11年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
学 位 論 文 名	Quantitative Analysis and In Situ Localization of Human Telomerase RNA in Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma (慢性肝疾患および肝細胞癌におけるヒトテロメラーゼRNAの 定量分析および組織局在)
論文審査委員	主 査 教 授 黒木 哲夫    副主査 教 授 上田真喜子 副主査 教 授 木下 博明

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】テロメラーゼはテロメアDNAの合成、伸長を触媒する特殊な逆転写酵素である。テロメラーゼ活性は多種の細胞株や悪性腫瘍で高率に検出され、肝臓においても大部分の肝細胞癌組織で高レベルのテロメラーゼ活性が検出されるために肝細胞癌の新しいマーカーとして期待されている。しかし癌のみられない慢性肝疾患組織の約半数においても微小なテロメラーゼ活性が検出されており、その根源は未だ明らかではない。この研究の目的はreverse transcription(RT)-polymerase chain reaction(PCR)techniqueを用いてこの微小なテロメラーゼ活性を発現しうる根源を調べ、肝発癌の際のヒトテロメラーゼRNA(hTR)の発現の変化を調べることである。

【対象と方法】針生検、外科切除、病理解剖によって得られた正常肝6症例、慢性肝炎41症例、肝硬変13症例、肝細胞癌小結節23症例のホルマリン固定パラフィン包埋組織標本を対象とした。競合RT-PCRを用いてhTRの定量分析を行い、*in situ* RT-PCRを用いてhTR組織局在を調べた。

【結果】競合RT-PCRにより相対的hTR量は、正常肝( $-2.1 \pm 0.3$ )に比し慢性肝炎または肝硬変( $-1.6 \pm 0.4$ )で( $p < 0.005$ )、正常肝に比し肝細胞癌( $-0.1 \pm 0.7$ )で( $p < 0.0001$ )、慢性肝炎または肝硬変に比し肝細胞癌で( $p < 0.0001$ )有意に高値であることが示された。また*in situ* RT-PCRによりhTRは、正常肝では時に類洞壁細胞と肝細胞の核に、腫瘍の無い慢性肝疾患と腫瘍のある慢性肝疾患の非癌部では大部分の類洞壁細胞と浸潤リンパ球に、および一部の増殖細胞胆管上皮細胞との肝細胞の核に、肝細胞癌では大部分の類洞壁細胞と強いシグナルとして全ての肝細胞癌の核に検出された。

【結語】癌のみられない慢性肝疾患組織の約半数において検出される微小なテロメラーゼ活性を発現する細胞は主として浸潤リンパ球や類洞壁細胞であり、hTRの量は肝発癌の際に肝細胞の核で著増する事が示された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

テロメラーゼはテロメアDNAの合成、伸長を触媒する特殊な逆転写酵素である。テロメラーゼ活性は多種の細胞株や悪性腫瘍で高率に検出され、肝臓においても大部分の肝細胞癌組織で高レベルのテロメラーゼ活性が検出されるために肝細胞癌の新しいマーカーとして期待されている。しかし癌のみられない慢性肝疾患組織の約半数においても微弱なテロメラーゼ活性が検出されており、その根源は未だ明らかではない。本研究はreverse transcription(RT)-polymerase chain reaction(PCR)techniqueを用いてこの微弱なテ

ロメラゼ活性を発現する根源を調べ、肝発癌の際のヒトテロメラゼRNA(hTR)の発現量の変化を調べたものである。

針生検、外科切除、病理解剖によって得られた正常肝6症例、慢性肝炎41症例、肝硬変13症例、肝細胞癌小結節23症例のホルマリン固定パラフィン包埋組織標本を対象とした。競合RT-PCRを用いてhTRの定量分析を行い、*in situ* RT-PCRを用いてhTR組織局在を調べた。結果として競合RT-PCRにより相対的hTR量は、正常肝に比し慢性肝炎・肝硬変で有意に高値であり、また肝細胞癌では慢性肝炎・肝硬変に比し有意に高値であった。さらに*in situ* RT-PCRによりhTRは、正常肝では時に類洞壁細胞と肝細胞の核に、腫瘍の無い慢性肝疾患と腫瘍のある慢性肝疾患の非癌部では大部分の類洞壁細胞と浸潤リンパ球および一部の増殖細胞胆管上皮細胞との肝細胞の核に、肝細胞癌では大部分の類洞壁細胞と強いシグナルとして全ての肝細胞癌の核に検出された。

本研究により、癌のみられない慢性肝疾患組織の約半数において検出される微弱なテロメラゼ活性を発現する細胞は主として浸潤リンパ球や類洞壁細胞であり、hTRの量は肝発癌の際に肝細胞の核で著増する事が明らかにされた。

本研究は今まで報告の無かった慢性肝疾患および肝細胞癌におけるhTRの発現および組織局在に関して新たな知見を加えたものである。さらに本研究で得られた結果は慢性肝疾患を基盤とした肝細胞癌発生の機序解明のみならず、総論的な発癌メカニズム究明の一助となりうるものであり、また将来的には早期肝細胞癌の診断能向上に寄与すると考えられる。

よって著者は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。